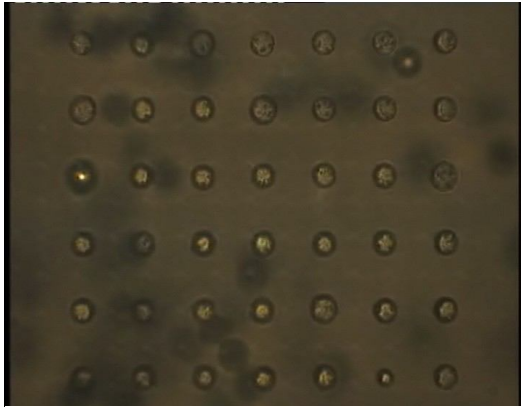


Beszámoló az NK72375 számú pályázatról

- Műszeres fejlesztés.** A pályázat váza nagyteljesítményű optikai mikromanipulációs laboratórium kiépítése, illetve alkalmazásával új típusú biofizikai vizsgálatok végzése volt. A fejlesztések elsősorban technológiai jellegűek voltak. A pályázott összeg nagyrészt a fejlesztések fedezetét szolgálta. Két fő komponense volt a munkának, az elvégzett munka teljes mértékben megfelelt a munkatervben kitűzöttnek.

1.1. Optikai csapda SLM-el. Az egyik komponens egy mikroszkópra épített lézercsipesz műszeregyüttes összeállítása. A műszer sajátja, hogy a csapdázó lézerfényt fény térmodulátor (Spatial Light Modulator-SLM) segítségével módosítjuk. Ezzel lehetőség nyílik az optikai csapda alakítására rendkívül tág határok között. A csapdát tetszőlegesen irányíthatjuk, a csapdák számát megsokszorozhatjuk, elvileg tetszőleges számú, függetlenül irányítható csapdát hozhatunk létre a holografikus eljárással. Nyilvánvaló, hogy egy ilyen berendezéssel minőségi ugrást érünk el az optikai mikromanipulációban.



1. ábra Műanyag golyók egyidejű optikai csapdázása holografikus optikai csipeszben.

Egyrészt, egyszerre sok objektumot csapdázhatunk, ezek egymáshoz viszonyított helyzete dinamikusan változtatható. Másrészt, bonyolult alakú testeket egyszerre több csapdával is megragadhatunk, és ekkor bonyolult mozgásokat lehet vezérelni. A berendezést elemekből építettük össze, illetve megtanultuk/kifejlesztettük a vezérlését. A

holografikus csapdák létrehozása számításigényes folyamat – mára

megvalósítottuk a hologramok igen gyors kiszámítását. Jelenleg képesek vagyunk tetszőleges csapda mintázatot az SLM ismétlési frekvenciájával (kb. 60 Hz) meghatározni, vagyis teljesen szabad irányítást tudunk megvalósítani. A képességek illusztrációjául a mellékelt ábrán egyidejűleg egy 6x7-es mátrix elrendezésben 42 műanyag golyót csapdázunk. A megvalósított rendszer az optikai mikromanipuláció legmagasabb szintjét képviseli, rendkívüli mértékben megsokszorozván kísérleti lehetőségeinket.

Nagyon lényeges, az optikai csapdázástól független további új lehetőséget is nyit a fenti rendszer: Laboratóriumunk tevékenységében fontos szerepe van a lézeres fotopolimerizációnak. Kétfotonos gerjesztésű fotopolimerizációval szubmikrométeres térbeli feloldással tetszőleges alakú testeket tudunk létrehozni. Ezeket egyrészt az optikai mikromanipulációban használjuk próbatestekként, másrészt pedig integrált optikai rendszerek komponenseit, fényvezetőket állítunk elő ezen eljárással. A fenti műszerrel, a gerjesztő nyaláb holografikus alakításával egyrészt gyorsan bonyolult alakzatokat tudunk létrehozni, másrészt a nyaláb sokszorozásával egyszerre több

alakzat készítésére van lehetőség. Mindez a fotopolimerizációs eljárás lehetőségeinek lényeges megnövelését teszi lehetővé.

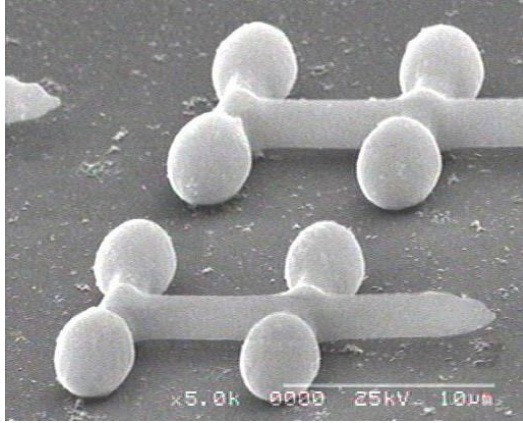
- 1.2. **Litográfias berendezés.** A második fő infrastruktúra komponens egy litográfias berendezésegység: maszk levilágító, stb. A pályázatban megnyert műszeregységet beszereztük, beüzemeltük, és kiegészítve saját finommechanikai műhelyünkben készített feltétekkel kiválóan működik. E műszernek fontos szerepe van nagyobb kétdimenziós struktúrák létrehozásában, így készítjük mikrofluidikai eszközeinket, részben az integrált optikai eszközöket, ezek kutatási aktivitásunk további alapvető részét képezik.
- 1.3. **Fotopolimerizáció SLM-el.** Az SLM-mel módosított lézerefény nem csak a csapdázást forradalmasítja, a fotopolimerizáció eljárásában is új lehetőségeket nyújt. Az alakított fázisfrontú lézerefénnyel egyszerre hozhatunk létre bonyolult alakú testet, illetve egyszerre több testet is kialakíthatunk. E téren folyamatos fejlesztő munkát végzünk. Legutóbb az SLM segítségével történő polimerizációs eljárást tökéletesítettük: módszert dolgoztunk ki arra, hogy az SLM optikai hibáit hogyan határozzuk meg és kompenzáljuk ki. Egy Michelson interferométer segítségével meghatároztuk az SLM felületének görbületét, illetve az ezt kikompenzáló felületet. Így az SLM használatakor sem romlik a nyáláb minősége, ez esetben csak a diffrakció limitálja a felbontást. **A munkából közlemény született, el is fogadták már, de a beszámoló idejéig még nem jelent meg.**
2. **Biofizikai kutatások** Az új berendezések új típusú biofizikai kutatások széles spektrumának képezik az alapját. E kutatásaink jórészt korábbi munkáink folytatása az új eszközök adta lehetőségekkel, illetve olyan új irányokat is kezdtünk, amelyekre eddig nem volt lehetőség.

2.1.DNS csavarás

Fontos témája csoportunknak a továbbfejlesztett optikai csipesz, amelyben speciális alakú próbatestek segítségével kiterjesztjük az optikai csapdázás lehetőségeit. Ilyen alapvető manipulációs eljárás a csavarás – lapos test alkalmazásával az optikai csipeszben forgatónyomatékokat tudunk kifejteni, illetve mérni. Megmértük így a DNS molekula torziós elaszticitását. További kísérleteinkben érzékeny mérésekkel a torziós elaszticitásnak a DNS molekula megnyúlásától való függését terveztük megmérni, illetve a forgatónyomaték alkalmazásával a DNS molekulán konformációváltozásokat indukálni. Ezek a kísérletek sok lényeges új információt ígérnek a DNS molekuláról. Sajnos a kísérletek nehezebbek, mint előzőleg gondoltuk. Fő problémánk a DNS molekula specifikus rögzítése az új, fotopolimerizációval. Vegyész kollegákkal együttműködésben dolgozunk a stabil, jól jellemzett tulajdonságú minták készítésén. A munka folyamatban van.

2.2.Bonyolult testek manipulálása többszörös csapdában. Az SLM-el kiegészített optikai csipesz egyszerre több csapda független irányítására ad lehetőséget. A fotopolimerizációs eljárással pedig tetszőleges bonyolultságú testeket is létre tudunk hozni. E két eljárás kombinációjával megvalósítható, hogy egy összetett alakú testet több csapdával ragadunk meg, és tetszőlegesen változtassuk helyét, helyzetét. Az eljárás lehetőségeit már megjelent közleményben mutattuk be. További idevonatkozó munkáinkról az alábbiakban szölok.

2.2.1. Pointer. Létrehoztunk egy lézerszipeszen mozgatható manipulátort. Az alaptípus az alábbi ábrán látható: Az eszköz lényege, hogy négy ponton lézerszipesszel rögzítjük a kiterjedt test térbeli helyzetét, és a középső rú végének pontos pozicionálásával egy optikai mikromanipulátorhoz jutunk. Az eszköz paramétereit, a pozicionálás elérhető pontosságát jellemeztük: kb. 10 nm pontosság ill. stabilitás érhető el. Az eszköz több variációját fejlesztjük. Két irányban végeztünk eddig előrehaladott kísérleteket. Egyrészt, az eszközzel felületek felszínének a rugalmasságát mérjük. Ez fontos terület, mert lézerszipeszen megragadott gömb próbatesttel többen mértek felületi keménységet, és különös, a felülettől bizonyos

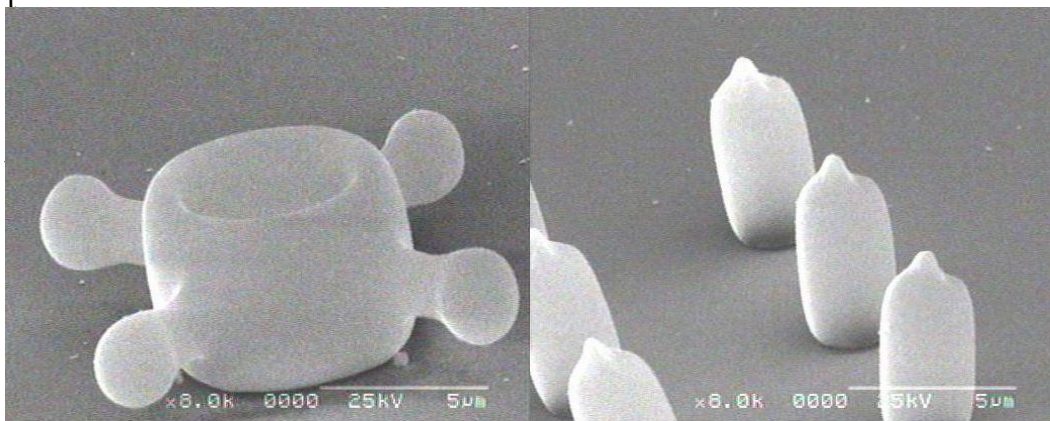


2. ábra Négy optikai csapdával irányított mikromanipulátor

távolságig ható réteget írtak le. A jelenségre sejtbioológiai

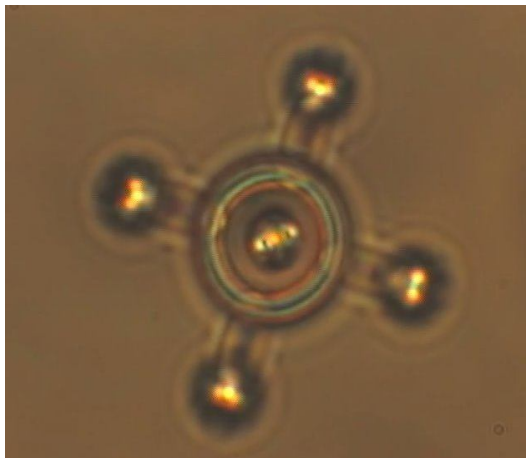
következtetések épülnek. Felmerül azonban a kérdés, nem az optikai csipesznek a felülethez közeli, optikai eredetű torzítása-e csak az ok. A kérdés eldöntésére alkalmas az eszközünk: itt az optikai csapdázás illetve a mechanikai kölcsönhatás helye el van választva egymástól, így ez esetben a sejt felszín biztosan nem torzítja a csapdát. Másik jelenlegi fejlesztési irányunkban a próbarúd végét bevonjuk arany nanorészecskékkel, amelyek plazmon rezonanciát mutatnak. A rezonanciát felületi plazmonok erős lokális tere kíséri, ezzel pedig fluoreszcenciát illetve Raman szórást lehet gerjeszteni erősen lokalizált módon. A cél sejt felszíni alkotórészek szelektív gerjesztése, vizsgálata Raman és fluoreszcenciás spektroszkópiával. Jelenleg megoldottuk a felület nanorészecskékkel történő bevonását, és a felületi plazmonokkal elért fluoreszcencia gerjesztés kimutatásán dolgozunk. A munka folyamatban van.

2.2.2. Viszkóziméter. A sejtbiológiában kulcsfontosságú a közeg reológiai jellemzése. Az anyag viszkoelasztikus tulajdonságai nagyon sok információt hordoznak a sejt állapotáról, a sejtben zajló folyamatokról. Nagyon fontos



3. ábra A viszkóziméter fényel tartott és forgatott külső hengere, valamint belső hengerének néhány példánya a fotopolimerizáció után

a biológiai anyagoknak, hogy a viszkoelasztikus tulajdonságok méretfüggők: mivel a paramétereket bizonyos jellemző hosszúságú polimerekből kialakult hálózatok határozzák meg, ezért attól függően, hogy a vizsgált folyamatok karakterisztikus mérete hogyan viszonyul ehhez a méretskálához, egész más értékek figyelhetők meg. A mikroviszkozitás mérése ezért fontos területe a biofizikának. Több eljárás van a mikroviszkozitás mérésére. Mindig feladat a mikro- és makro adatok összevetése. Létrehoztunk egy fénnyel készített és fénnyel működtetett mikroviszkozitásmérőt, amely egy makroszkopikus eszköznek, a Couette-típusú viszkozitásmérőnek a mikroszkopikus változata. Az eszköz egymáshoz képest forgó koncentrikus hengereken alapul. E műszer elmélete jól ki van dolgozva, és mikroszkopikus változatának vizsgálata jól



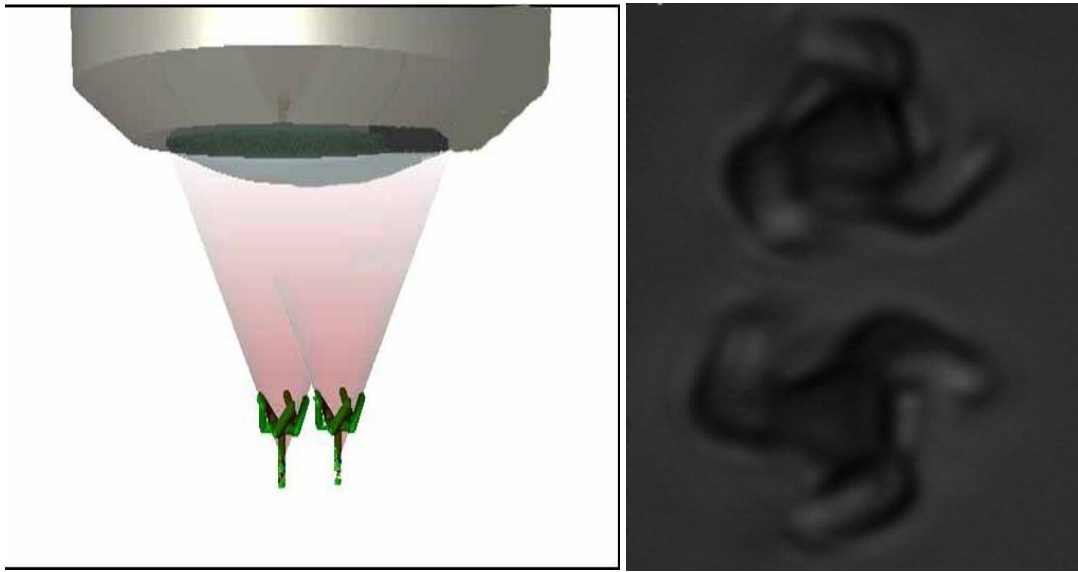
4. ábra A működő viszkoziméter a fénymikroszkópban

összeköti a mikro és makro világot. Néhány mikron méretű eszközt alakítottunk ki fotopolimerizációs eljárással: A külső hengert az SLM alapú lézercsipesszel tartjuk négy ponton - és forgatjuk, jellemzően szinuszos oszcillációval. A belső hengert fény tartja, illetve, orientálja abban az értelemben, hogy egy egyensúlyi pozíciója van, egy harmonikus visszatérítő nyomaték hat rá - ezt úgy érzük el, hogy a belső henger két végére kicsiny lapos kitüremkedést építünk, és a hengert lineárisan poláros fénnyel képzett csapda tartja. Korábban mi dolgoztuk

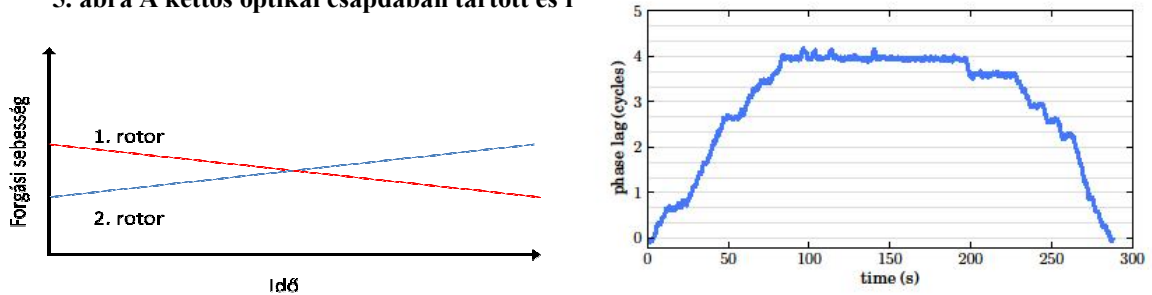
ki ezen orientációs eljárást: a lapos testeket a lineárisan poláros fény orientálja, elég nagy tartományon lineáris szögfüggésű orientációs csapdát képez. A mérés során a külső hengert mozgatjuk, és a viszkozus kölcsönhatás révén mozgatott belső henger mozgásából következtethetünk a viszkoelasztikus tulajdonságokra. Az eszközt megépítettük, működik. A mérések kvalitatív szempontból megfelelőek. Sajnos, kvantitatív értelemben nem elég jók az eredmények, és egyelőre nem értjük pontosan, miért. Minden lehetséges szisztematikus hibalehetőséget kiküszöböltünk, mégsem mutatják az elvárt frekvenciamenetet a belső henger oszcillációjának amplitúdó és fáziskésés értékei. Jelenleg az a véleményünk, hogy ennek az az oka, hogy a kis méretek miatt a részek mozgásának Brown-mozgás komponense nagy a szabályos mozgáshoz képest, és emiatt a viselkedés lényegesen eltér a makroszkopikus esettől. Igyekszünk megérteni a jelenséget.

2.3. Hidrodinamikai szinkronizáció. Mikroorganizmusok nagyszámú mozgó szervecskéi, mint pl. a csillók vagy flagellák, egymáshoz szinkronizálva mozognak. Új elmélet szerint a szinkronizáció eredete a hidrodinamikai kölcsönhatás. A tetszetős elmélet kísérleti igazolása eddig nem sikerült. Rendszerünkkel olyan kísérletet alakítottunk ki, amelyben kimutatható mikroszkopikus mozgó testek közötti hidrodinamikai kölcsönhatás. Két fénnyel hajtott propellert készítettünk. Ezeket egyenként, két optikai csapdában megragadtuk, és forgattuk. A forgás sebességét egymáshoz képest finoman változtattuk. Megvalósult közöttük a fáziscsatolás: Ha

közel egyenlő sebességgel forognak, bizonyos pozíciók gyakorisága nagyon megnő. A jelenséget alaposan kimértük: a szinkronizáció függését a sebességtől, a forgó



5. ábra A kettős optikai csapdában tartott és f



6. ábra A hidrodinamikai szinkronizáció kísérleti demonstrációja. A kísérlet menete, illetve a fáziskülönbség változása.

testek egymástól mért távolságától, stb. Ezen túl, megoldottuk a jelenség teljes szimulációját. Jelenleg az adatok, a viselkedés részleteinek az elemzése folyik, hamarosan közleményt írunk a nagyon érdekes témából.

2.4. Fotoelektrooszmózis. Csoportunk témakörének fontos része a mikrofluidika, mint az optikai mikromanipuláció természetes környezete. Korábban kidolgoztuk a folyadék áramlásának optikai vezérlését. A választott eljárásban a folyadékot elektrokinetika úton, elektrooszmózissal mozgatjuk, és az elektrooszmózist befolyásoló paramétereket módosítjuk fénnel. A jól működő rendszerben a csatorna falát fényvezető anyagból készítjük, és a fénnel így a folyadékot mozgató elektromos teret moduláljuk, ezen keresztül pedig a folyadék áramlását. Az alapjelenség korábbi demonstrációja után kidolgoztuk, hogyan lehet az eljárással a folyadékáramlás mintázatát befolyásolni – nagy jelentősége van e kérdéskörnek a mikrofluidikában, hiszen itt a nagyon kicsi Reynolds-szám miatt az áramlás mindig lamináris, ezért a keverés megvalósítása nehéz feladat. Megfelelő mintázatú fényvezető fal alkalmazásával fénnel bekapcsolható helikális áramlást valósítottunk meg. A munkából közlemény készült. Jelenleg azon dolgozunk, hogy a fényérzékeny csatorna falra vetített tetszőleges mintázatú fénnel az áramlás mintázatát dinamikus módon változtassuk.

2.5. Integrált optikai eszközök:

2.5.1. Növesztett fényvezetőkben előállított kettős optikai csapda. A mikrofluidikai rendszerekben integrált optikai eszközökkel megvalósított optikai csapdát célszerű használni. Ez általában két egymással szemben haladó, kis numerikus apertúrájú nyalábbal valósítható meg, akár közös séges optikai szállal. Ezeknek azonban hátrányuk, hogy vastagságuk 100 mikron körüli, vagyis a szokásos mikrofluidikai eszközök számára túl nagyok. Kidolgoztunk ezért egy eljárást, amelyben olyan fényvezetőt növesztünk, amelynek a vastagsága a fényvezető magjának felel meg (azaz 10 mikron körüli), és így jól illeszthető a mikrofluidikához. A fényvezetőt fénnel növesztjük, úgy, hogy egyszerűen bevilágítunk fényre keményedő polimerbe a fényvezetővel, és a végére egy stabil fényvezető nő. Az eljárás olyan fényre keményedő polimer esetén használható, amelynek polimerizáció során nő a törésmutatója. Az eljárással minimális helyigényű optikai csipeszt valósítottunk meg. A munkából közlemény jelent meg.

2.5.2. Integrált optikai Mach-Zehnder interferométerek szenzorikai és optoelektronikai logikai alkalmazásokra. A mikrofluidikai rendszerek egyik kulcsfontosságú komponense a megfelelő érzékenyséű optikai szenzor. Korábbi kísérleteink alapján fotopolimerizációs eljárásunkkal Mach-Zehnder interferométer szenzorokat készítettünk, ezek mikrofluidikai eszközökhöz integrálható, jelölésmentes detektálást lehetővé tevő, nagyon nagy érzékenyséű eszközök. Két ide vonatkozó munka fejeződött be a közelmúltban: egyrészt, a rendszer teljesítményét demonstrálandó, ígéretes optoelektronikai eszközt: fénnel vezérelt optikai kapcsolót valósítottunk meg. Másrészt, a jelölésmentes érzékelés demonstrálására antigén-antitest reakció jellemzését valósítottuk meg. A módszer érzékenysége összemérhető a jelenleg használt, fluoreszcens jelölőkön alapuló, jóval bonyolultabb eljárásokkal, és kompatibilis a mikrofluidikai eszközökkel. A munkából két közlemény jelent meg, egy további jelenleg referálás alatt van.

3. **Összefoglalás.** A pályázat támogatásával kiépítettünk és beüzemeltünk egy nagyteljesítményű, teljesen újfajta manipulációt lehetővé tevő SLM-re alapozott optikai csapda laboratóriumot, valamint lényegesen megjavítottuk a lézeres fotopolimerizáción alapuló struktúraépítés lehetőségeit laboratóriumunkban. Az új laboratóriumban számos projektet kezdtünk. Mivel a technika újdonsága miatt valóban teljesen új projektekről van szó, számos munka még folyamatban van. A közeljövőben folytatjuk ezeket a munkákat, és azt várjuk, hogy számos munka eredménye jut publikálható állapotba.

Szeged, 2011. június 3.

Ormos Pál